

CYTOKINE REGULATOR

Patent number: JP2001058950
Publication date: 2001-03-06
Inventor: YONEDA FUMIO; MURAOKA SHIZUKO; MORIGUCHI MIHO;
NORISADA NOBUYOSHI
Applicant: FUJIMOTO BROTHERS KK
Classification:
- international: A61K35/36; A61P1/00; A61P17/02; A61P27/02; A61P29/00;
A61P43/00
- european:
Application number: JP19990272893 19990820
Priority number(s): JP19990272893 19990820

Report a data error here

Abstract of JP2001058950

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a cytokine regulator capable of promoting the production of transforming growth factor-β having potent cell growth inhibitory action against epithelium-derived cells and the like and inhibiting the production of inflammatory cytokine by including a vaccinia virus-inoculated rabbit skin extract.
SOLUTION: This cytokine regulator is obtained by including a vaccinia virus-inoculated rabbit skin extract as active ingredient. It is preferable that cytokine regulation means promoting the production of transforming growth factor-β and interleukin-10 and inhibiting the production of tumor necrosis factor and interferon-&gamma, and this regulator is used in treating diseases including wounds, burns, detached retinas, inflammatory intestinal diseases, perforative peritonitis, septicemia convalescence and articular rheumatism. The daily dose of the above extract is pref. 3.6-16 units either singly or in two to four portions, and the administration is conducted intravenously or the like.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-58950

(P2001-58950A)

(43) 公開日 平成13年3月6日 (2001.3.6)

(51) Int.Cl.	識別記号	F I	テ-マコ-ト (参考)
A 6 1 K 35/36		A 6 1 K 35/36	4 C 0 8 7
A 6 1 P 1/00		A 6 1 P 1/00	
17/02		17/02	
27/02		27/02	
29/00		29/00	
審査請求 未請求 請求項の数 6 書面 (全 7 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願平11-272893	(71) 出願人	397055067 株式会社フジモト・ブラザーズ 大阪府松原市西大塚1丁目3番40号
(22) 出願日	平成11年8月20日 (1999.8.20)	(72) 発明者	米田 文郎 大阪府松原市西大塚1丁目3番40号 藤本 製薬株式会社創薬研究所内
		(72) 発明者	村岡 静子 大阪府松原市西大塚1丁目3番40号 藤本 製薬株式会社創薬研究所内
		(72) 発明者	森口 美保 大阪府松原市西大塚1丁目3番40号 藤本 製薬株式会社創薬研究所内
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 サイトカイン調節剤

(57) 【要約】

【目的】 ワクシニアウイルス接種家兔炎症皮膚抽出液を有効成分として含有するサイトカイン調節剤を提供する。

【構成】 ワクシニアウイルス接種家兔炎症皮膚抽出液は、トランスフォーミンググロウスファクター- β およびインターロイキン-10の産生を促進し、炎症性のサイトカインである、腫瘍壊死因子、インターフェロン- γ 、インターロイキン-1、インターロイキン-6の産生を抑制する作用を有し、炎症性サイトカインの亢進が、疾患の形成、増悪に関与した創傷、熱傷、網膜剥離、炎症性腸疾患、穿孔性腹膜炎または敗血症の予後、関節リウマチ、アレルギー症状またはそれらの治療剤として有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ワクシニアウイルス接種家兎皮膚抽出液を有効成分として含有するサイトカイン調節剤。

【請求項2】 サイトカイン調節が、トランスフォーミンググロウスファクター- β およびインターロイキン-10の産生を促進し、腫瘍壊死因子およびインターフェロン- γ の産生を抑制することである請求項1記載のサイトカイン調節剤。

【請求項3】 創傷、熱傷、網膜剥離、炎症性腸疾患、穿孔性腹膜炎、敗血症の予後、関節リウマチおよびアレルギー症状からなる群のいずれかの疾患の治療に使用される請求項1～2記載のサイトカイン調節剤。

【請求項4】 腫瘍壊死因子およびインターフェロン- γ の産出が亢進した、創傷、熱傷、網膜剥離、炎症性腸疾患、穿孔性腹膜炎、敗血症の予後、関節リウマチおよびアレルギー症状からなる群のいずれかの疾患の治療に使用される請求項1～2記載のサイトカイン調節剤。

【請求項5】 腫瘍壊死因子およびインターフェロン- γ の産出が亢進した疾患における疼痛の治療に使用される請求項1～2記載のサイトカイン調節剤。

【請求項6】 腫瘍壊死因子およびインターフェロン- γ の産出が亢進した、創傷、熱傷、網膜剥離、炎症性腸疾患、穿孔性腹膜炎、敗血症の予後、関節リウマチおよびアレルギー症状からなる群のいずれかの疾患における疼痛の治療に使用される請求項1～2記載のサイトカイン調節剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ワクシニアウイルス接種家兎皮膚抽出液を有効成分とするサイトカイン調節剤を提供するものである。

【0002】

【従来の技術】サイトカインは、免疫担当細胞をはじめとする種々の細胞から産生され、極めて微量で細胞間相互作用に不可欠の生物活性を有する糖蛋白であり、リンパ球から産生されるサイトカインはリンフォカイン、単球・マクロファージ系細胞から産生されるサイトカインはモノカインとも称される。サイトカインの生物活性には、正の調節機構と負の調節機構の両方が存在し、正常状態では調節機構がバランスよく作動し相互にネットワークを組み生体の恒常性を担っている。

【0003】しかし、このバランスが崩れると、サイトカイン産生異常が出現したり、または種々の疾患の形成、増悪の原因となる。例えば、産生された腫瘍壊死因子(TNF- α)に対する負の調節機構(制御機構)が十分機能しない場合、TNF- α はサイトカインネットワークを介して、インターロイキン-1(IL-1)、インターロイキン-6(IL-6)、インターロイキン-8(IL-8)等のさまざまな他の炎症性サイトカインの産生を促進し、産生されたサイトカインが再びT

NF- α の産生を促進するといった連鎖反応により、炎症の悪循環を生じさせ、ついには骨、軟骨等での組織が破壊され、自己免疫疾患である関節リウマチ等につながるといわれている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】現在、さまざまな疾患において、病態の形成、増悪及び疼痛に関与するサイトカインが判明してきており、そのため、サイトカインを疾患の診断や治療の判定に応用する研究や、更に進んで、過剰なサイトカインの産生またはその活性の抑制、不足・欠乏サイトカインの補充、産生促進等を新たな治療法とする研究が盛んである。

【0005】種々のサイトカインのうち、トランスフォーミンググロウスファクター- β (TGF- β)は、線維芽細胞の増殖因子として見出されたサイトカインであるが、遺伝子工学的に造り出されたTGF- β_1 欠損マウスにおいて、多臓器における多発性炎症または多臓器不全が発症すること(ネイチャー(Nature), 359:693, 1992)、及び、骨芽細胞の増殖、細胞外基質合成基質分泌の促進、基質分解酵素産生の阻害、各種組織の肉芽形成、線維化促進作用及び細胞分化作用に基づく創傷または熱傷等の組織損傷修復作用、接着因子の発現促進作用に基づく網膜剥離に対する治療作用、過剰な免疫反応の抑制作用、Tリンパ球細胞群をTh₂細胞群へシフトさせる作用等が観察されている。更に、最近では、重症動脈硬化症では血清中の活性型TGF- β レベルの著しい低下が認められ(ネイチャー メディシン(Nature Medicine), 1:74, 1995)、動脈硬化症の形成、増悪にもTGF- β レベルの低下が関与していると推察されている。このTGF- β の生物活性の作用機序としては、TGF- β が上皮由来の細胞、血管内皮細胞、リンパ球、その他の造血系細胞に対して強い細胞増殖抑制作用を示すこと、これら細胞由来のサイトカインの産生を抑制することが重要視されている。

【0006】また、インターロイキン-10(IL-10)は、免疫担当細胞であるTリンパ球のTh₁とTh₂からなる細胞群のうち、おもにTh₂細胞群から産生されるサイトカインで、腸管系における免疫機構の制御作用、CD8⁺細胞障害性T細胞、抗体産生細胞、肥満細胞に対する促進的作用、Th₁細胞やマクロファージに対する抑制的作用、Th₁細胞由来サイトカインであるインターフェロン- γ (IFN- γ)及びマクロファージ由来のサイトカインであるTNF- α 、IL-1、IL-6等の産生を抑制することが知られている。これらTNF- α とIL-1は、その産生機序または生物活性がよく重複しあうサイトカインとして知られており、また、TNF- α 、IL-1、IL-6は、ヒトの潰瘍性大腸炎やクローン病等の炎症性腸疾患、穿孔性腹膜炎、グラム陰性菌等による敗血症からの予後不良等の疾

患の形成、増悪に深く関与しているといわれている。そして、ヒトの潰瘍性大腸炎やクローン病ではTNF- α 、IL-1、IL-6の産生を抑制するIL-10の血清中レベルが有意に低下していること（臨床免疫、27, 16: 97, 1995）、IL-10遺伝子欠損マウスでは自己免疫性腸疾患が確実に発症すること（セル（Cell）, 75: 263, 1993）、IL-10がこれらサイトカインに起因した疼痛をおさえること（ブリティッシュジャーナル オブ ファーマコロジー（Brit. J. Pharmacol.）, 115: 684, 1995）等の報告から、IL-10産生の促進は、これらマクロファージ系細胞及びTh₁細胞から産生されるサイトカインの過剰が誘因となって、発症、増悪経過をたどる疾患に有用であることが明らかにされている。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、有効成分名がワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液と称される医薬品原薬に、上皮由来細胞、血管内皮細胞、リンパ球、その他の造血系細胞に対する強い細胞増殖抑制作用、これら細胞に由来する炎症性または細胞障害性等のサイトカインの産生を抑制するTGF- β の産生を促進し、また、マクロファージ系細胞またはTh₁細胞由来のサイトカインの産生あるいは活性を抑制する作用をもつIL-10の産生を促進し、IFN- γ 及びTNF- α の産生を抑制する活性が存在することを知見し、本発明を完成した。

【0008】ワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液は、例えば医療薬日本医薬品集1997年10月版第1710頁に記載されている既知の物質であり、これを有効成分とした製剤は、免疫調整、抗アレルギー、鎮痛および鎮静剤、特にストレス状態にある神経組織に対し特異的に作用する薬剤として、その含有量は力価を示す「単位」で表されるか、または当該「単位」と実質的に同等とされている「ノイロトロピン単位」で表され、医療用薬剤として市販されている（以下、「単位」に統一して記す）。しかし、これまで、サイトカインであるTGF- β 、IL-10、IFN- γ およびTNF- α に対する調節作用は全く知られていなかった。

【0009】本発明にかかるワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液の投与量は、疾患の種類や患者個人の感受性、調節すべきサイトカインのレベルによって異なるが、1～60単位/日の範囲で増減が可能であり、また、投与に際しては、適した有機または無機の固体または液体賦形剤のような医薬用担体と混合して投与することができる。通常は3～32単位/日、好ましくは3.6～16単位/日を、1日に1回または2～4回に分けて、静脈内投与、皮下投与、筋肉内投与または経口投与する。

【0010】以下に実施例を示して本発明を詳細に説明

するが、これらの実施例は本発明の範囲を限定するものではない。尚、特に説明がない限り、「抽出液」は本発明のワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液を意味する。

【0011】

【実施例1】8～15週令の（C57BL/6 X DBA/2）F₁ 雌マウスに、本発明のワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液（抽出液）12.5単位/kgを単回腹腔内投与した場合と、3日間連日腹腔内投与した場合の、投与後24時間目にマウスを脱血し血清を採取した。対照群のマウスには、投与した抽出液と同一容量の注射用生理食塩液を投与した。各群3匹のマウス使用。血清を採取したマウスと同一マウスより脾臓を採取し、直ちに定法により全RNAを抽出精製し-80℃に保存し、逆転写反応-ポリメラーゼチェーンリアクション（RT-PCR）用サンプルとした。各々のマウス脾臓RNA1 μ gにTGF- β 1遺伝子特異的下流プライマーを加え、逆転写酵素を作用させてcDNAを合成した後、上流プライマーを更に添加し、耐熱性DNA合成酵素を用いてcDNAを増幅した。各サンプルのcDNAを2%寒天ゲル電気泳動により分画し、525塩基対のバンドの濃度をデンストメーターにより測定した。同様に、各サンプルのRNAより内部標準としてグリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素（G3PDH）遺伝子についても逆転写反応によりcDNAを合成後、cDNAを増幅した。寒天ゲル電気泳動により分画した983塩基対のG3PDHバンドの濃度を、デンストメーターにより測定した後、各サンプルにつきTGF- β 1バンドとG3PDHバンドの濃度比を算出した。

【0012】その結果として、2%寒天ゲル電気泳動により分画した各サンプルのTGF- β 1バンドは抽出液投与群のcDNA産物のバンドの方が、対照群に比較し濃いバンドを示し、抽出液投与によりTGF- β 1遺伝子転写が促進された。デンストメーター測定によるTGF- β 1バンドとG3PDHバンドの濃度比の平均値は、抽出液投与群は約0.9であり、対照群は約0.7で、抽出液投与群の平均値が対照群の平均値より高い値を示した（第1図）。異なる日時に、再度同様の抽出液腹腔投与実験を繰り返し、ワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液腹腔内投与が、TGF- β 1遺伝子転写を統計学的に有意（p<0.01）に促進することを確認した（第2図）。

【0013】

【図1】

【0014】

【図2】

【0015】

【実施例2】8～15週令の（C57BL/6 X DBA/2）F₁ 雌マウス2匹に、本発明のワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液（抽出液）12.5単位

／kgを、1日1回3日間連日腹腔内投与した。24時間後に脾臓を採取し、細胞を48時間培養した。対照群のマウス2匹には、投与した抽出液と同一容量の注射用生理食塩液を同様に投与した。培養上清を回収し、TGF- β の生物活性をミンク肺線維芽細胞の増殖抑制活性として、1匹よりのサンプルを2回定量し、その平均値を算出した。あるいは脾臓を採取後、脾細胞を単離し、コンカナバリンAと共に24時間培養後、培養上清を採取した。脾細胞培養上清中の活性型TGF- β 蛋白量を、サンドイッチ固相酵素免疫(ELISA)測定法により決定した。

【0016】抽出液投与により、TGF- β の遺伝子転写促進ばかりでなく、TGF- β の蛋白産生も促進されることが確認された。なお本生物活性測定法は、TGF- β_1 、TGF- β_2 、TGF- β_3 の全TGF- β 活性を検出するものであるため、TGF- β_1 ばかりでなく抽出液投与のTGF- β_2 、TGF- β_3 産生への影響も推定できることを意味する。生物活性とTGF- β 蛋白量との相関性を示す検量線は遺伝子組み換え型ヒトTGF- β_1 を用いて作成した。また活性型TGF- β の測定には、培養上清をそのままサンプルとして用い、全TGF- β の測定は、培養上清を塩酸で処理して潜在型TGF- β を活性型に変換させて行った。本実験の抽出液投与群では、活性型TGF- β は907.7 pg/ml、全TGF- β は1226.4 pg/mlであったのに対し、対照群では各々135.5 pg/ml、639.6 pg/mlであった(第3図)。このように抽出液投与は、脾細胞よりの活性型及び潜在型の両方のTGF- β 産生を促進した。

【0017】

【図3】

【0018】

【実施例3】8～15週令の(C57BL/6 X DBA/2)F₁雌マウスに、本発明のワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液(抽出液)25単位/kgを腹腔内に1回注射するのとほぼ同時に、コンカナバリンA6.25mg/kgあるいは注射用生理食塩液を皮内注射した。投与後3日目に各マウスより血液を採取し、血清を分離して被検サンプルとした。サンドイッチELISA法を用い、検量線の作成には遺伝子組み換え型ヒトTGF- β_1 を使用して血清中の活性型TGF- β_1 蛋白量を測定した結果、コンカナバリンAを投与されなかった群では、抽出液投与群の血清中の活性型TGF- β_1 は8.76 ng/ml、対照群では7.12 ng/mlであり、コンカナバリンA投与群では、抽出液投与マウス血清中の活性型TGF- β_1 は7.86 ng/ml、対照群では7.05 ng/mlであった(第4図)。このように抽出液投与により、コンカナバリンA同時投与の有無に係わらず、血清TGF- β レベルが統計学的に有意に上昇した(p<0.05)。また、コン

カナバリンA同時投与は、血清中のTGF- β レベルには影響を及ぼさなかった。

【0019】

【図4】

【0020】

【実施例4】8～15週令の(C57BL/6 X DBA/2)F₁雌マウスに、本発明のワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液(抽出液)12.5単位/kgを1日1回3日間連続腹腔内投与し、24時間後に脾臓を採取し、直ちに定法により全RNAを抽出精製し、-80℃に保存後、RT-PCRのサンプルとした。対照群のマウスには、抽出液と同一容量の注射用生理食塩液を投与した。各群3匹のマウスを使用。各々のマウス脾臓RNA1μgにIL-10遺伝子特異的下流プライマーを加え、逆転写酵素を作用させてcDNAを合成した後、上流プライマーを更に添加し耐熱性DNA合成酵素を用いてcDNAを増幅した。同様に、各サンプルの全RNAより内部標準としてG3PDH遺伝子についても、逆転写反応によりcDNAを合成した後、cDNAを増幅した。各サンプルのcDNAを2%寒天ゲル電気泳動により分画し、IL-10の421塩基対バンドの濃度をデンストメーターにより測定した。IL-10及びG3PDHのRT-PCR反応後のcDNA産物の2%寒天ゲル電気泳動写真で、抽出液投与群(レーン4、5、6)のcDNA産物の方が、対照群(レーン1、2、3)より濃いバンドを示した。デンストメーターによりバンド濃度を測定した後、各サンプルにつきIL-10バンドとG3PDHバンドの濃度を比較した結果、対照群のバンド濃度比平均値を1.0としたとき、抽出液投与群の平均値は2.62で、抽出液投与により、IL-10遺伝子転写が有意(p<0.01)に促進されていた(第5図)。

【0021】

【図5】

【0022】

【実施例5】本発明のワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液(抽出液)12.5単位/kg単回投与によるIL-10遺伝子転写促進確認実験。各群2匹のマウスを用いて、投与回数を単回投与とした以外は実施例4の実験と同様の操作にて、脾臓mRNA1μgよりIL-10遺伝子についてRT-PCRを行い、遺伝子転写レベルを生理食塩液対照群と比較した結果、無処置群のIL-10とG3PDHバンド濃度比を1.0としたとき、生理食塩液投与群1.31、抽出液投与群2.29で、3回投与に比べて程度は低かったが、単回投与でもIL-10遺伝子転写促進傾向が認められた(第6図)。

【0023】

【図6】

【0024】

【実施例6】本発明のワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液(抽出液)10、25、50単位/kgを(C57BL/6 X DBA/2)F₁雌マウスに、3日間に5回腹腔内投与後、16時間後に脾臓を採取し、脾細胞を単離し、コンカナバリンA 3.0μg/ml存在下で43時間培養し、培養上清中のIL-10をサンドイッチELISA法により定量した。1群5匹使用。検量線の作成には、遺伝子組み換え型マウスIL-10を用いた。抽出液投与群の脾細胞培養上清中に含まれるIL-10蛋白量は、10単位/kg投与群で129.0pg/ml、25単位/kg投与群で131.1pg/ml、50単位/kg投与群で163.6pg/mlであり、抽出液投与のいずれの群でも脾細胞培養上清中のIL-10蛋白濃度が、無処置群107.5pg/ml、あるいは注射用生理食塩液投与群112.3pg/mlのIL-10蛋白濃度に比較し、有意(p<0.05、あるいはp<0.01)に上昇した(第7図)。

【0025】

【図7】

【0026】

【実施例7】(C57BL/6 X DBA/2)F₁雌マウスに、本発明のワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液(抽出液)6.25、12.5単位/kgを、1日1回3日間連続腹腔内投与した。対照群のマウスには注射用生理食塩液、また抑制陽性対照群としてデキサメタゾン2mg/kg/回を同様に投与した。最後の投与より約24時間目に脾臓を採取し、脾細胞をコンカナバリンA 2.5μg/ml存在下で24時間培養し、培養上清中のIFN-γをサンドイッチELISA法により定量した。検量線の作成には、遺伝子組み換え型マウスIFN-γを用いた。抽出液投与は用量依存的にマウス脾細胞のIFN-γ産生量を減少させ、12.5単位/kgで、デキサメタゾン投与群の1.78ng/mlと同程度の1.94ng/mlまで、IFN-γ産生量を抑制した(第8図)。

【0027】

【図8】

【0028】

【実施例8】(C57BL/6 X DBA/2)F₁雌マウスに、本発明のワクシニアウイルス接種家兎炎症皮膚抽出液(抽出液)12.5単位/kgを、1日1回3日間連続腹腔内投与した。対照群のマウスには注射用

生理食塩液、また抑制陽性対照群としてデキサメタゾン2mg/kgを同様に投与した。最後の投与より約24時間目に脾臓を採取し、脾細胞を大腸菌由来エンドトキシン(E.coli 026:B6)10/μg/ml存在下で2時間培養し、培養上清中のTNF-αをサンドイッチELISA法により定量した。検量線の作成には、遺伝子組み換え型マウスTNF-αを用いた。抽出液投与群での脾細胞のTNF-α産生は、デキサメタゾン投与群と同程度まで抑制された(第9図)。

【0029】

【図9】

【図面の簡単な説明】

【図1】実施例1におけるRT-PCR反応後のTGF-β₁及びG3PDHのcDNAの電気泳動後のバンドの濃度比を示すグラフである。

【図2】実施例1と同様の実験を異なる日時に行った実験で、TGF-β₁とG3PDHの電気泳動後のバンドの濃度比を示すグラフである。

【図3】実施例2におけるマウスの脾細胞培養上清中の活性型TGF-β活性及び全TGF-β活性を示すグラフである。

【図4】実施例3におけるサンドイッチELISA法により測定したマウスの血清中の活性型TGF-β₁を測定した結果を示すグラフである。

【図5】実施例4におけるRT-PCR反応後のIL-10及びG3PDHのcDNAの電気泳動後のバンドの濃度比を示すグラフである。

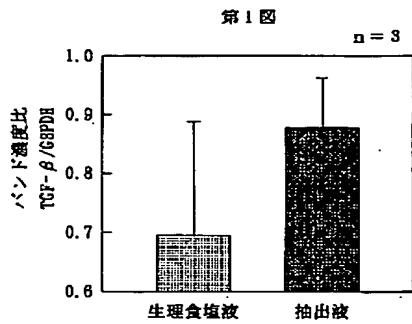
【図6】実施例4と同様の実験を異なる日時に行った実験で、IL-10とG3PDHバンドの電気泳動後のバンドの濃度比を示すグラフである。

【図7】実施例6におけるマウスの脾細胞のコンカナバリンA刺激培養上清中のIL-10蛋白量をサンドイッチELISA法により測定した結果を示すグラフである。

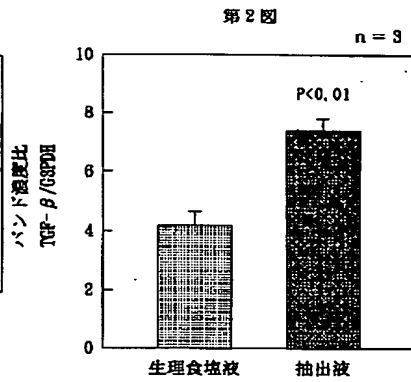
【図8】実施例7におけるマウス脾細胞のコンカナバリンA刺激培養上清中のIFN-γ濃度をサンドイッチELISA法測定により測定した結果を示すグラフである。

【図9】実施例8におけるマウス脾細胞の大腸菌由来エンドトキシン刺激培養上清中のTNF-α濃度をサンドイッチELISA法測定により測定した結果を示すグラフである。

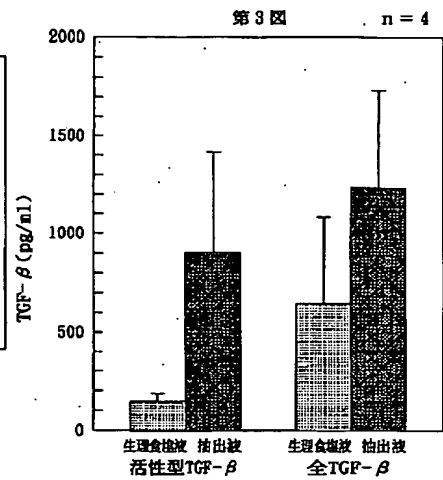
【図1】



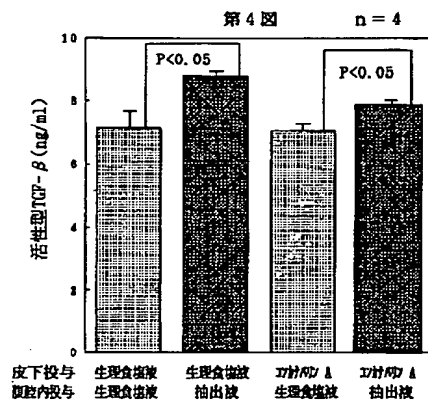
【図2】



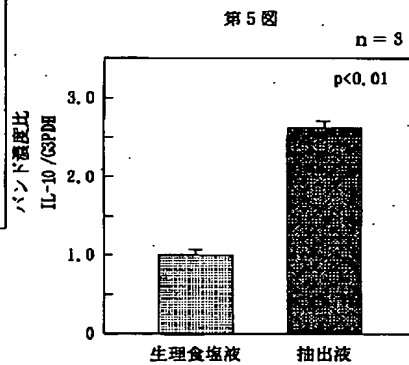
【図3】



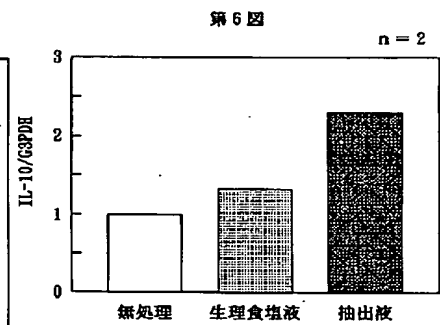
【図4】



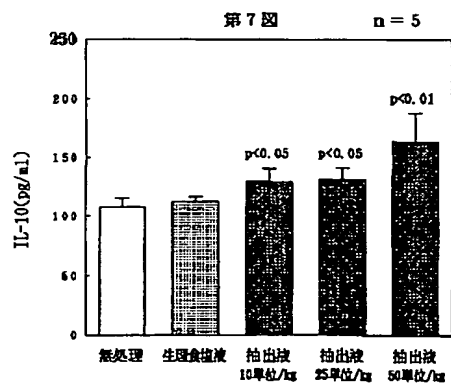
【図5】



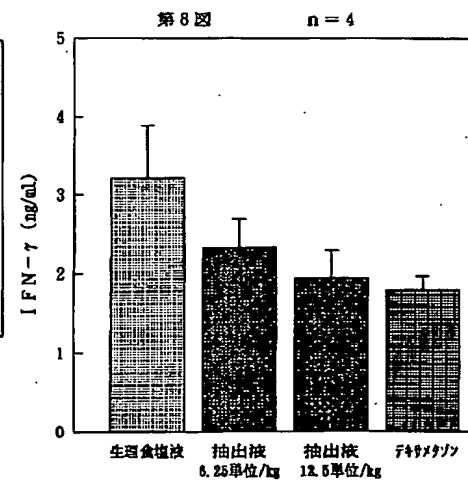
【図6】



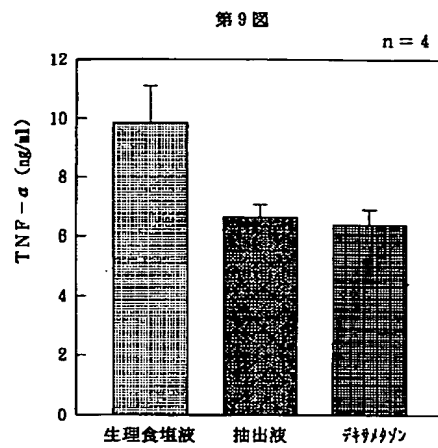
【図7】



【図8】



【図9】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	キーワード (参考)
A 6 1 P 43/00	1 1 1	A 6 1 P 43/00	1 1 1

(72)発明者 則貞 伸嘉
大阪府松原市西大塚1丁目3番40号 藤本
製薬株式会社創薬研究所内

Fターム(参考) 4C087 AA01 AA02 BB48 BC83 CA06
MA01 NA14 ZA33 ZA66 ZA89
ZB02 ZB07 ZB09 ZB11 ZB13
ZB15 ZB35